

Variación genética poblacional de *Haemulon flavolineatum* entre el Banco de Campeche y el Norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana mediante el uso de marcadores moleculares microsatélite

TESIS

PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN MANEJO DE
RECURSOS NATURALES TROPICALES**

POR

BIÓLOGO LUIS SERGIO ZAVALA BARRERA

DIRECTORES:

Dr. Carlos Francisco González Salas

Dr. Sergio Guillén Hernández



POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Mérida, Yucatán, México, Marzo 2018

**MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO DE
RECURSOS NATURALES TROPICALES**

**ALUMNO: LICENCIADO EN BIOLOGÍA
LUIS SERGIO ZAVALA BARRERA**

SINODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

DR. JORGE NAVARRO ALBERTO
CCBA-UADY

DR. GASPAR POOT LÓPEZ
CCBA-UADY

DR. ALFONSO AGUILAR PERERA
CCBA-UADY

DR. HAROLD VILLEGAS HERNÁNDEZ
CCBA-UADY

DR. WILLIAM MAY ITZÁ
CCBA-UADY

MÉRIDA, YUCATÁN, MARZO, 2018

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

Biól. Luis Sergio Zavala Barrera

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Carlos González por brindar las herramientas, el conocimiento y asesoramiento para la elaboración de éste documento.

A los doctores Sergio Guillén, Jorge Navarro, Gaspar Poot y Harold Villegas por sus correctas observaciones a lo largo de la elaboración de ésta tesis.

A CONACYT por el apoyo económico brindado a lo largo de los dos años de maestría.

A mi madre Adelina Barrera por ser el pilar de mi familia, que junto con mi hermano Omar Zavala y mi abuela Elsa Brito, siempre han sido mi apoyo incondicional y familia amorosa.

A Diana Berriel por el tiempo, conocimiento y observaciones realizadas para elaborar la tesis, así como por ser una gran compañera y brindar apoyo incondicional.

A Rebeca Barrera por comportarse como una madre, dando todo durante todos estos años.

A la familia Barrera por hacer una estancia más amena y familiar en los dos años de maestría.

A la familia Zavala por ser una gran familia unida, que siempre brinda lo que uno necesita.

A los doctores Jorge Navarro, Gaspar Poot, Harold Villegas, Alfonso Aguilar y William May por sus correcciones del documento como comité sinodal.

A mis amigos del “pueblo” y a la familia Torresina que siempre han estado al pendiente y son la más grande porra.

A mis camaradas Pancho, Rafa, Monse, Rodrigo Baas, Brianda, Aleja, Alexander, Camila, Maybeth y Maritza por el apoyo y hacer que la maestría sea más divertida y amena.

DEDICATORIA

A mis padres, mi hermano y mi abuela quienes siempre me han apoyado y han puesto su confianza en mí para seguir siempre adelante.

RESUMEN

Se determinó la estructura genética de las poblaciones de *Haemulon flavolineatum* en cuatro localidades, dos ubicadas en el Banco de Campeche (Cayo Arcas y Arrecife Alacranes) y dos en el Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (Puerto Morelos y Banco Chinchorro) mediante el uso de marcadores moleculares (5 loci microsátélites). Se colectaron 50 ejemplares por cada localidad, se realizó la extracción, cuantificación y amplificación de ADN y finalmente, se observaron los productos de amplificación. Se evaluó la presencia de alelos nulos, la variabilidad genética intra e inter-regional, los componentes de variabilidad y el flujo genético. De los cinco microsátélites, uno presentó alelos nulos, por lo que sólo se consideraron los cuatro restantes para su posterior análisis. La mayor heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o) de cada locus se encontró en Banco Chinchorro (0.9076 y 0.9600, respectivamente). Al ser mayor la H_o que la H_e y el único sitio con exceso de heterocigotos ($F_{IS}=-0.02196$), se considera que Banco Chinchorro presenta una posible ruptura con el aislamiento, mientras que en los otros sitios se observa que son poblaciones heterogéneas con tendencia a homogeneizarse. El valor de consanguinidad (F_{IS}) fue de 0.09998 y el índice de fijación (F_{ST}) fue de 0.03444 indicando diferencias genéticas entre las poblaciones. Las distancias genéticas de Nei (D_s) fueron más estrechas entre Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes (0.130). También presentaron el mayor número de migrantes efectivos por generación ($Nm=14.34$). Por otro lado, Puerto Morelos presentó mayor distancia genética con Banco Chinchorro (0.209), siendo geográficamente cercanos. *H. flavolineatum* presenta una estructura genética entre sus poblaciones, presentando diferencias entre y dentro las mismas, resultando cuatro poblaciones y posibles stocks entre los sitios muestreados. Al presentar una fase larval corta, la corriente de Yucatán y la de Lazo permiten su dispersión entre las poblaciones de la Barrera Arrecifal Mesoamericana y el Golfo de México, pero no son lo suficiente para homogeneizar las poblaciones para formar una población panmíctica.

PALABRAS CLAVE: *Haemulon flavolineatum*, estructura genética, Banco de Campeche, Norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana, población panmíctica, microsátélites.

SUMMARY

We determined the genetic structure of *Haemulon flavolineatum* populations in four locations, two into Campeche Bank (Cayo Arcas and Alacranes Reef) and two in the North of the Mesoamerican Reef System (Puerto Morelos and Chinchorro Bank) through microsatellite analysis. 50 individuals were collected for each locality, and it was performed a DNA extraction, quantification, amplification, and visualization of amplification products. We evaluated null allele presence, the genetic intra and inter-regional variability, the variability components and the genetic flux. Of the 5 microsatellite, one presented null alleles, so, we only considered 4 of them. The expected (H_e) and observed (H_o) heterozygosity of each locus, was higher in Chinchorro Bank (0.9076 and 0.9600, respectively), Being bigger the H_o than H_e and the only site with heterozygotes ($F_{IS} = -0.02196$), we consider Chinchorro Bank presets a possible isolated rupture, in the other hand, we observed that the other locations were heterogenic populations with homogenize tendency. The consanguinity index (F_{IS}) was 0.9998 and fixation index (F_{ST}) was 0.03444 indicating genetic differences between populations. The Nei genetic distances (D_s) were narrower between Chinchorro Bank and Alacranes Reef (0.130). Also they presented the major number of effective migrants per generation ($Nm = 14.34$). On the other hand, Puerto Morelos presented high genetic distance (0.209) with Chinchorro Bank, despite being geographically close. *H. flavolineatum* present a genetic structure between its populations, presenting differences between and within populations, resulting four populations and possible stocks between four sampled sites. It present a short larval phase, Yucatan and Lazo currents permit their dispersion between Mesoamerican Reef Barrier and Gulf of Mexico populations, but it is not sufficient to homogenize the populations to form a panmictic population.

KEY WORDS: *Haemulon flavolineatum*, genetic structure, Campeche Bank, North of Mesoamerican Reef Barrier, panmictic population, microsatellites.

ÍNDICE GENERAL

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD	i
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	iv
SUMMARY	v
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 <i>Uso de la genética para la determinación de la estructura poblacional</i>	3
2.2 <i>Herramientas genéticas para determinación de la dinámica poblacional</i>	4
2.3 <i>Microsatélites</i>	5
2.4 <i>Dispersión larval</i>	6
2.5 <i>Biología de Haemulon flavolineatum</i>	8
2.6 <i>Corrientes Caribe y del Golfo de México</i>	11
3. OBJETIVOS	14
3.1 <i>Objetivo General</i>	14
3.2 <i>Objetivos Particulares</i>	14
HIPÓTESIS	14
4. REFERENCIAS	15
5. ARTÍCULO CIENTÍFICO	21

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La biología de la conservación utiliza los marcadores genéticos y los análisis demográficos como herramientas esenciales para realizar investigaciones (Villegas-Hernández, 2010; Tay et al., 2015). Asimismo, los organismos marinos ampliamente distribuidos a través de sus fases larvales, han sido asumidos ser genéticamente homogéneos debido a la aparente carencia de barreras físicas al flujo génico (Rosenblatt y Waples, 1986). Sin embargo, mecanismos biológicos (natación de las larvas) y físicos (corrientes) han sido recientemente reconocidos como importantes, mejorando la retención larval (Swearer et al., 1999; Ellien et al., 2000; Leis y Carson-Ewart, 2000; Cowen, 2006; Leis et al., 2007; Muhling et al., 2013).

Las larvas de peces son consideradas reclutas que se integran a los arrecifes, siempre y cuando exista espacio para albergarlos (McFarland et al., 1985). Son reclutadas en un distinto espacio y tiempo, los cuales determinan el tamaño de la población (Ellien et al., 2000; Cowen, 2006; Purcell et al., 2006; Lowe y Allendorf, 2010). Algunas especies tienen una total dependencia en el transporte de larvas a los lugares donde se asientan los adultos en el arrecife coralino (Cowen et al., 2000; Ellien et al., 2000; Cowen, 2006). Por otro lado, algunas poblaciones pueden presentar aislamiento que puede ser provocado por su reproducción o por las corrientes marinas, ya que, si la velocidad de corriente es reducida, facilita la retención larval (Jackson et al., 2014). Las corrientes involucradas en la Barrera Arrecifal Mesoamericana, tienen una alta velocidad, por lo tanto, dificultan la retención larval entre sus localidades y varían el número efectivo de migrantes por generación (Muhling et al., 2013; Carrillo et al., 2015 a; Beltrán et al., 2017). Por lo anterior, se realizan estudios genéticos, los cuales pueden revelar el movimiento efectivo de los migrantes, así como su dispersión por generación (Jackson et al., 2014; Beltrán et al., 2017).

En el estudio de la genética de poblaciones en peces arrecifales se utilizan aloenzimas y ADN mitocondrial para entender la estructuración genética (Palumbi 2003; Purcell et al., 2006; Beltrán et al., 2017). La caracterización de la estructura genética poblacional, es importante para el estudio de especies marinas con una importancia comercial y ecológica, ya que indica

si las poblaciones en amplias regiones geográficas son homogéneas o heterogéneas (Tello-Cetina et al., 2013; Ellis et al., 2017), como es el caso del abadejo (*Mycteroperca phenax*) (Zatcoff et al., 2004) y el ronco blanco (*Haemulon plumieri*) (Villegas-Hernández, 2010), los cuales encontraron diferencias entre sus poblaciones, mientras que el arenque del Pacífico (*Clupea pallasii*) (O'Connell et al., 1998), la cherna (*Epinephelus morio*) (Zatcoff et al., 2004) y la damisela bicolor (*Stegastes partitus*) (Ospina-Guerrero et al., 2008) no encontraron diferencias.

Entre los peces arrecifales con una amplia distribución en el Océano Atlántico se encuentra *Haemulon flavolineatum*, el cual ha sido utilizado en diversas investigaciones por su pequeño tamaño e importancia económica y ecológica, ya que provee de energía a las comunidades arrecifales al ser presa de especies de interés comercial (Darcy, 1983; McFarland et al., 1985; Beets et al., 2003; Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; Barden et al., 2014). También conocido como ronco francés, *H. flavolineatum* es referido como un grupo de peces que se encuentran en mayor abundancia y biomasa en pastos marinos y en arrecifes coralinos (Lindeman, 1986; Beets et al., 2003; Rocha et al., 2008; Barden et al., 2014). Presenta dos desoves durante el año, la primera durante primavera y la segunda en el verano, esto en climas subtropicales (McFarland et al., 1985). Tienen dos fases durante su historia de vida, la primera en su forma larval, la cual durará 14 días para su posterior asentamiento en los arrecifes coralinos (McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987).

El presente documento, tuvo como objetivo determinar la estructura genética de las poblaciones de *Haemulon flavolineatum* en cuatro sitios entre las regiones Banco de Campeche y el Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano mediante el uso de loci microsatélites como marcadores moleculares poblacionales. Los loci microsatélites fueron seleccionados por mostrar una alta variabilidad genética y con frecuencia revelan una mejor solución que otros marcadores moleculares (i.e. aloenzimas) en la determinación de la estructura genética de poblaciones (Slatkin, 1995; Williams et al., 2004, Cadrin et al., 2005; Mojekwu y Anumudu, 2013). Esto permitirá conocer el estado de los arrecifes de la península de Yucatán.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Uso de la genética para la determinación de la estructura poblacional

Una población está definida por su reservorio genético, siendo el conjunto de todos los alelos de todos los genes de los individuos que la componen. (Curtis et al., 2011). Los marcadores genético molecular son herramientas utilizadas para determinar singularidades genéticas en individuos, poblaciones o especies (Mojekwu y Anumudu, 2013). La estructura de las poblaciones están formada por dos partes: la estructura demográfica que son los procesos asociados al nacimiento, muerte, dispersión, el apareamiento y la historia de vida; la segunda la estructura genética que está determinada por procesos genéticos como la selección, la recombinación y la mutación (Slatkin, 1994). La estructura genética de una población es la cantidad, el tipo y la distribución de la variación genética presente, que es expresada en términos de frecuencias genéticas o genotípicas (Rimieri, 2013). También se refiere a la existencia de subgrupos dentro de una población (Torres et al., 2015). Entender las implicaciones ecológicas de una estructura genética baja es complejo, debido a que el resultado en el flujo genético se presenta en escalas evolutivas y no en el marco del tiempo ecológico (Beheregaray y Sunnucks, 2001; Palumbi, 2003; Planes, 2006). El intercambio genético se estima a partir de la media de la población (N) y la media de cada población que son migrantes (m). Mientras que el flujo genético se estima con la proporción de la variación genética que es geográficamente estructurado (F_{ST}), utilizando modelos de estructura poblacional cuando el flujo genético es bajo (Palumbi, 2003). Dicho de otro modo, el F_{ST} es la medida de la correlación entre los genes de una subpoblación en relación con la población entera. Entonces el flujo genético es un componente principal de la estructura poblacional porque delimita las poblaciones locales de una especie como unidad evolutiva independiente (Slatkin, 1994).

Los estudios de genética de poblaciones son una herramienta para conocer el intercambio poblacional o conectividad, indicando cuando los intercambios genéticos ocurren a extensas distancias, desde metros hasta cientos de kilómetros (Cowen et al., 2000; Cowen, 2006). Los

estudios sobre conectividad tienen su origen en estudios de ecosistemas terrestres (Chávez-Hidalgo, 2009), donde se mide la importancia del cambio entre individuos de una sola especie de dos o más comunidades o sitios a lo largo de un espacio y tiempo (Cowen, 2006; Chávez-Hidalgo, 2009; Curtis et al., 2011). Permitiendo medir y conocer el nivel de importación y exportación de individuos entre poblaciones (Chávez-Hidalgo, 2009). Se ha recomendado realizar investigaciones relacionadas con la conectividad de hábitats bajo escalas temporales y espaciales (Beets et al., 2003). Villegas-Hernández (2010) realizó un estudio con microsátélites para conocer la variabilidad genética de *Haemulon plumieri* al norte de la Península de Yucatán y demostraron, al menos para dicha especie, que existe una estructura genética intra e inter-regional, lo que significa que no existe conectividad genética, entre sitios relativamente cercanos. Por otro lado, Purcell et al. (2006) encontraron evidencia genética del modelo steeping-stone, al encontrar un aislamiento por distancia en la distribución de las poblaciones de *H. flavolineatum* en todo el Caribe. Por otro lado, la damisela bicolor (*Stegastes partitus*) presenta una baja estructura poblacional, resultando una sola población al sur del Caribe, que presenta un flujo genético por generación. También el mero del Caribe (*Epinephelus striatus*) presenta una estructura poblacional en la zona norte del Caribe, provocada por una limitación en la dispersión de larvas (Jackson et al., 2014).

2.2 Herramientas genéticas para determinación de la dinámica poblacional.

Las poblaciones locales de una metapoblación están relacionadas por medio de las tasas demográficas (natalidad y mortalidad), siendo una baja tasa de dispersión, lo suficiente para mantener el flujo genético entre poblaciones, manteniendo su similitud genética (Smith y Smith, 2007). Para determinar la estructura genética, se debe comprender el patrón de variación de la especie a estudiar, donde se evalúen los genotipos de los individuos de la especie (Slatkin, 1994). Cuando las poblaciones son cerradas, es porque presentan una baja tasa de dispersión (Ospina-Guerrero et al., 2008) evitando así la panmixia (Lowe y Allendorf, 2010); la cual se refiere a un patrón específico de intercambio reproductivo, donde cada individuo se aparee de modo azaroso, excluyendo cualquier preferencia fenotípica (Curtis et al. 2011); se presenta cuando las tasas de migración son mayores al 20% (Lowe y Allendorf,

2010). El reservorio genético de una población se distribuye en el tiempo en genotipos particulares que portan los individuos de cada generación. El objetivo de la genética de poblaciones es caracterizar los reservorios genéticos, así como los cambios en su composición a través del tiempo y espacio geográfico y conocer sus procesos (Cowen, 2006; Curtis et al., 2011).

Para determinar la similitud o variabilidad genética de las poblaciones se utilizan distintos métodos como son la electroforesis de proteínas, polimorfismo de longitud de fragmento de restricción nuclear y mitocondrial (RFLP's, por sus siglas en inglés), minisatélites, microsátélites, polimorfismos de ADN amplificados aleatoriamente (VNTR's, por sus siglas en inglés) y secuencias de ADN (Féral, 2002; Planes, 2006; Curtis et al., 2011). Actualmente se utilizan métodos que tienen una efectividad del 99.99%; los cuales analizan secuencias marcadoras del ADN que presentan una variabilidad de individuo a individuo y permiten trazar una "huella" genética (Curtis et al., 2011). Estas zonas particulares del ADN son denominadas STR (del inglés, Short tandem repeats), los cuales son microsátélites o elementos cortos que son repetitivos y contienen de 3 a 7 pares de bases de ADN distribuidos en todo el genoma del organismo analizado (O'Connell et al., 1998; Curtis et al., 2011).

2.3 Microsátélites

Los multilocus microsátélites son un fragmento de ADN, también conocidos como STR (Short Tandem Repeats) que contiene de 2-7 pares de bases (pb), que se encuentran distribuidos en todo el genoma de los organismos procariontes y eucariontes (O'Connell et al., 1998; Cadrin et al., 2005; Curtis et al., 2011; Mojekwu y Anumudu 2013). Son una importante herramienta en estudios de evolución molecular, identificación de stocks genéticos y análisis de stocks genéticos mixtos, así como para determinar la estructura genética poblacional y la historia evolutiva de las especies, ya que se han encontrado niveles de variabilidad genética muy alta en loci microsateleltales. La estimación de las tasas de mutaciones microsateleltales varía considerablemente entre los taxones, del mismo modo que las variedades de microsátélites (Slatkin, 1995; Féral, 2002; Williams et al., 2004; Cadrin et

al., 2005; Mojekwu y Anumudu 2013).

Los microsatélites proporcionan información de locus individuales, siendo susceptible a cálculos de frecuencias alélicas que son necesarios para los estudios poblacionales; del mismo modo exhiben niveles altos de diversidad genética y de polimorfismos y finalmente cuando los primers han sido desarrollados, la metodología simplemente consiste en realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) y la electroforesis (O'Connell et al., 1998; Planes, 2006). Los locus microsatélite presentan una alta variabilidad en el número de repeticiones en un locus dado que corresponde a una tasa de mutación elevada, que puede ser errores de replicación, cruces desiguales, deslizamiento de la polimerasa o conversión de genes (Féral, 2002).

Los loci microsatelitales contienen de 1 a 6 pares de bases que se encuentran en el genoma de los organismos procariontes y eucariontes (Cadrin et al., 2005; Mojekwu y Anumudu 2013). Los microsatélites que son utilizados en los estudios para la identificación de stock's comúnmente contienen repeticiones di, tri o tetranucleotídicas. Puede haber desde 5 hasta 100 copias de STR's de un locus microsatélite (Cadrin et al., 2005). Los loci microsatelitales son abundantes en el genoma eucariota; en el caso de los peces, puede haber más que en cualquier invertebrado u otro vertebrado (Cadrin et al., 2005; Williams et al., 2006; Mojekwu y Anumudu 2013). Se ha estimado que los microsatélites presentan una tasa de mutación de 5×10^{-4} por locus por año por generación (Beltrán et al., 2017).

2.4 Dispersión larval

La dispersión de larvas es un proceso importante para entender la dinámica poblacional de vertebrados e invertebrados marinos (Cowen et al., 2000; Ellien et al., 2000; Francisco et al., 2006; Muhling et al., 2013; Beltrán et al., 2017). Para conocer esta dispersión, se realizan estudios sobre procesos físicos como son corrientes, surgencias y otros movimientos turbulentos en el agua, esto debido a que las larvas se comportan como partículas pasivas incapaces de llevar a cabo su desplazamiento autónomo, por lo que estos procesos definen

su distribución. Aunado a lo anterior, dichos procesos, junto con el comportamiento y la capacidad natatoria de las especies, ayudan a la retención y dispersión de larvas (Ellien et al., 2000; Leis y Carson-Ewart, 2000; Féral, 2002; Cadrin et al., 2005; Planes, 2006; Rodríguez-Valencia, 2007; Curtis et al., 2011; Jackson et al., 2014; Tay et al., 2014; Beltrán et al., 2017).

Muchas especies de peces marinos presentan una fase larval pelágica que permite su dispersión a través de largas distancias (Muhling et al., 2013). La mayoría de los peces arrecifales tienen una fase larval que dura semanas o incluso meses, por lo que el transporte puede actuar en una escala de decenas a cientos de kilómetros (Cowen, 2006), pero presentan un límite en sus trayectorias de dispersión (Muhling et al., 2013). Por otro lado, algunas poblaciones muestran una baja dispersión de individuos, debido a un proceso denominado autorreclutamiento, el cual, los individuos de una nueva generación son reintegrados a poblaciones existentes (Swearer et al., 1999).

La migración de larvas pelágicas está determinada por factores físicos como el movimiento de las mareas y el flujo de corriente para el reclutamiento (Ellien et al., 2000; Cowen, 2006; Muhling et al., 2013). Por ejemplo, en el Golfo de México *Epinephelus morio* y *Mycteroperca phenax* son consideradas especies que presentan una diferencia entre sus poblaciones debido al flujo de corrientes y retención larval (Zatcoff et al., 2004), del mismo modo *Lipophrys pholis* en las costas de Portugal (Francisco et al., 2006) y *Stegastes partitus* al sur del Caribe (Ospina –Guerrero et al., 2008).

Beltrán et al. (2017) menciona que las poblaciones de *Opistognathus aurifrons* en el Caribe tienen aproximadamente una capacidad de dispersión de 400-500 km, esto debido a su vida como larva pelágica de tres semanas. Por otro lado, *Epinephelus striatus* tiene subpoblaciones aproximadamente a 40 km de distancia entre sitios de la Barrera Arrecifal Mesoamericana, mientras que sus larvas en general pueden superar los 200 km (Jackson et al., 2014). Algunas especies de peces y organismos arrecifales presentan distintas distancias efectivas de dispersión por generación, dependiendo de su tiempo de fase larval, como es el caso de *Stegastes partitus* (9 km), *Hypoplectrus nigricans* y *Opistognathus aurifrons* (10

km), *Hypoplectrus puella* (hasta 14 km), la anémona *Amphiprion alerkii* (hasta 20 km), *Thalassoma bifasciatum* (27 km), *Haemulon flavolineatum* (46 km) y *Chaetodon capistratus* (52 km) (Beltrán et al., 2017).

2.5 Biología de *Haemulon flavolineatum*

El ronco francés *Haemulon flavolineatum*, es una especie perteneciente a la familia Haemulidae (Perciformes: Percoidae) (Darcy, 1983). Se distribuye a través del Mar Caribe y al Oeste del Océano Atlántico en Bermuda y al Sur de Carolina, hasta el Norte del Golfo de México (Barden et al., 2014) (Figura 1). Son mejor conocidos como roncacos porque durante el cortejo, producen un ruido muy similar a un gruñido (Barden et al., 2014). Beets et al. (2003) se refieren a los roncacos como un grupo de peces que se encuentran en mayor abundancia y biomasa en pastos marinos y en arrecifes coralinos en períodos diurnos, usados como sitios de descanso.

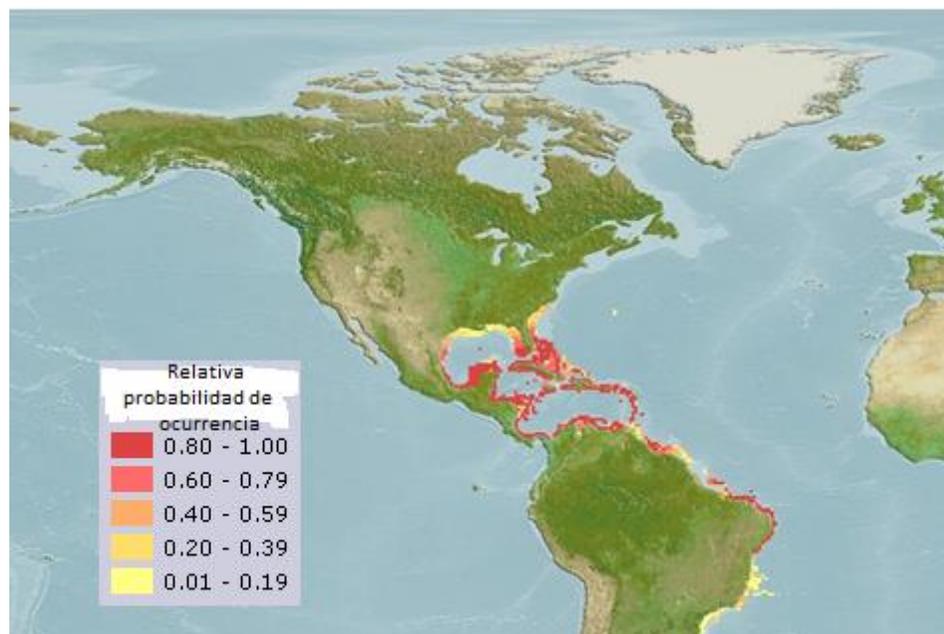


Figura 1. Mapa de distribución de *Haemulon flavolineatum* (tomado de http://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular).

El género *Haemulon* presenta 20 especies a nivel mundial, con 15 especies al oeste del

Atlántico y cinco en el Pacífico. Al oeste del Atlántico, son los peces arrecifales más abundantes y con la mayor biomasa, por el cual, este género es considerado con un amplio valor ecológico, así como importante para el desarrollo y la dinámica poblacional de esta zona. Son ideales para diversos estudios, ya que son relativamente grandes, los sitios que habitan los adultos son de fácil identificación y su taxonomía está bien identificada (Lindeman, 1986; Rocha et al., 2008).

Los Haemulidos son un grupo de peces mayormente capturados en pesca recreativa y de subsistencia en el área que habita; siendo un grupo de importancia comercial en áreas como el Banco de Campeche (Darcy, 1983; Lindeman, 1986). Algunas especies son consideradas como sobreexplotadas en zonas como el Golfo de California, el Golfo de Tehuantepec y el Banco de Campeche, mientras que en Tamaulipas y Tabasco se consideran en estado de máximo aprovechamiento (Lindeman, 1986; Arreguín-Sánchez y Arcos-Huitrón, 2011). *H. flavolineatum* es una especie considerada como de interés comercial en el Golfo de México y el mar Caribe en las regiones de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo (DOF, 2012).

H. flavolineatum tiene un desove asociado a las fases lunares quincenales; en primavera y verano desovan mensualmente en climas subtropicales, pero se han reportado desoves que ocurren anualmente en áreas más cálidas como en la zona tropical (McFarland et al., 1985; Barden et al., 2014). Presentan dos fases en su historia de vida, la primera en forma de larva, que suele durar 14 días aproximadamente para introducirse a los pastos marinos o arrecifes y después formen una vida bentónica (McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987). A diferencia de otras especies arrecifales, *H. flavolineatum* presenta una fase larval corta, permitiendo aumentar su sobrevivencia (Shulman y Ogden, 1987). Los juveniles más grandes migran a zonas más profundas de bahías y manglares hasta llegar a los arrecifes coralinos, donde vivirán el resto de su vida (Shulman y Ogden, 1987; Beets et al., 2003; Barden et al., 2014), formando “cardúmenes” (McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987; Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; Barden et al., 2014).

H. flavolineatum en su fase adulta realiza migraciones nocturnas (Darcy, 1983; McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987; Beets et al., 2003; Appeldoorn et al., 2009) saliendo de los arrecifes o del mangle para alimentarse en los pastos marinos, regresan al amanecer (Appeldoorn et al., 2009); mientras que en el día se encuentran en escuelas en zonas rocosas y arrecifes (Shulman y Ogden, 1987; Beets et al., 2003; Barden et al., 2014). Se ha observado que en ocasiones *H. flavolineatum*, se alimenta durante el día (Appeldoorn et al., 2009).

Así mismo, el ronco francés se alimenta principalmente de crustáceos como camarones, cangrejos, anfípodos y copépodos durante su forrajeo nocturno, mientras que más del 35% de su dieta se basa en poliquetos y priapúlidos o gusanos cacahuete (del inglés peanut worms). Los peces juveniles se localizan comúnmente cerca de la costa entre los manglares y pastos marinos, alimentándose durante el día de copépodos calanoides pelágicos, larvas de cangrejos y camarones, anfípodos y camarón mysis (Barden et al., 2014).

El ronco francés tiene un enfoque especial para ser investigado por su pequeño tamaño (Darcy, 1983) de aproximadamente 17 cm de longitud total (Barden et al., 2014), e importancia ecológica (Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; Barden et al., 2014), ya que provee de importante energía a las comunidades arrecifales al ser una de las principales presas de organismos más grandes de interés comercial como pargos y meros (Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; DOF, 2012) y al presentar migraciones ontogénicas de juveniles en los pastos marinos hacia los arrecifes coralinos en su fase adulta. También se asumen como organismos importantes para la investigación de ecosistemas marinos, funcionando como herramienta para el conocimiento de las interacciones existentes dentro del arrecife (Beets et al., 2003).

En el caso de los juveniles, se han descrito traslados hacia otros ecosistemas de hasta 300 m; siendo *H. flavolineatum* la especie que tiene una migración más lejana, ya que otras especies se han registrado movimientos menores a 100 m. En el caso de los adultos, la migración máxima registrada es de 767 m, aunque sus movimientos oscilan entre los 300-400 m (Appeldoorn et al., 2009). Beltrán et al. (2017), mencionan que *H. flavolineatum* es una de

las especies con mayor distancia efectiva de dispersión, estimada en 46 km por generación, mientras que especies como el bocón de cabeza amarilla (*Opistognatus aurifrons*), la damisela bicolor (*Stegastes partitus*), el mero carbonero (*Hypoplectrus nigricans*) y el mero barril (*Hypoplectrus puella*) presentan una distancia efectiva de dispersión menor a 15 km por generación.

2.6 Corrientes Caribe y del Golfo de México

Los sistemas marinos son muy dinámicos por la interacción de distintos procesos físicos en diferentes escalas de espacio y tiempo. El movimiento del agua en los sistemas biológicos, contribuye a la variación asociada con el reclutamiento de especies marinas (Cowen, 2006), por lo que es importante el conocimiento de las corrientes que afectan los sitios de muestreo.

El sistema de corrientes en el Golfo de México tiene su origen en el Mar Caribe. La circulación de mayor escala es dominada por la corriente de Lazo (Fig. 2 A), que une la corriente de Yucatán (Fig.2 B) con la corriente de Florida (Fig. 2 C) por un gran giro anticiclónico que va de la corriente de Lazo hacia el oeste. Asimismo, existen zonas con circulación ciclónica como la plataforma continental de Texas-Luisiana, la plataforma oeste de Florida y la Bahía de Campeche (Fig. 2). En la Bahía de Campeche comúnmente se forman giros ciclónicos (en contra de las manecillas del reloj), mientras que en el talud continental sucede lo contrario, forma giros anticiclónicos (Monreal-Gómez et al., 2004).

AUG-1-2013

CoastWatch NOAA/ADML
Altimeter/GTS Interface

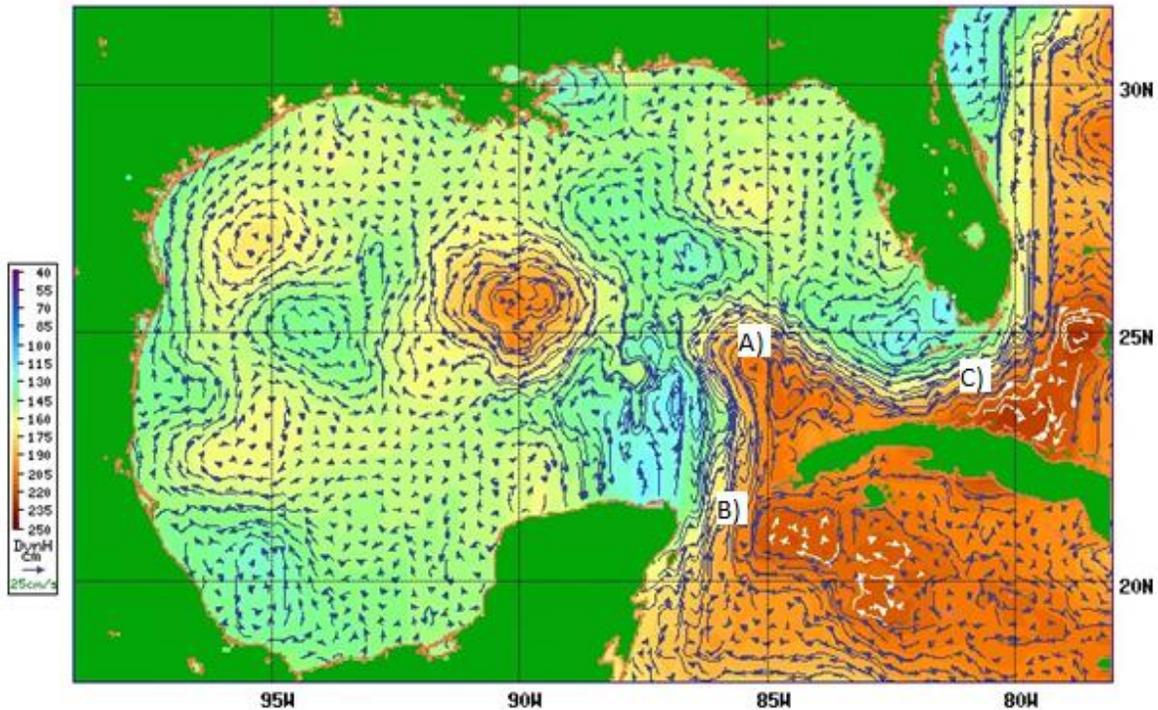


Figura 2. Patrón de giros ciclónicos y anticiclónicos del Golfo de México y del Mar Caribe mexicano (Tomado de NOAA, 2013). A) Corriente de Lazo; B) corriente de Yucatán; C) corriente de Florida.

El Sistema Arrecifal Mesoamericano se ubica al oeste del mar Caribe, abarcando México, Guatemala, Belice y Honduras. La circulación oceánica al oeste del Caribe está influenciada por el Atlántico, con un flujo en dirección al oeste a través de las Antillas, continuando hacia la Península de Yucatán como la corriente del Caribe (Muhling et al., 2013; Carrillo et al., 2015 a, b). Cuando la corriente del Caribe se dirige hacia la Península de Yucatán, cambia su dirección hacia el norte convirtiéndose en la corriente de Yucatán, la cual es introducida al Golfo de México (Muhling et al., 2013).

La circulación superficial del Caribe está compuesta por flujos con dirección oeste con velocidades entre 0.5 y 1.0 m/s. Estos flujos forman la corriente del Caribe en la que se encuentran abundantes giros asociados a la circulación de amplia escala (Carrillo et al., 2015

a, b). Se ha demostrado que los giros en esta zona, se desplazan de este a oeste y en algunas ocasiones entran al Golfo de México a través del Canal de Yucatán. Asimismo, algunos estudios han tratado de demostrar la relación entre los giros y la dispersión de huevos y larvas de peces, los cuales han concluido que en dos semanas, organismos pueden ser desplazados de Belice hasta el sur de Florida (Muhling et al., 2013; Carrillo et al., 2015a).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Calcular la estructura genética poblacional de *Haemulon flavolineatum* entre dos localidades de Banco Campeche y dos del Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano mediante el uso de loci microsatélites como marcadores moleculares.

3.2 Objetivos Particulares

- Calcular la diversidad genética de *Haemulon flavolineatum* en dos localidades del Banco de Campeche y dos localidades del Sistema Arrecifal Mesoamericano.
- Estimar los niveles de variabilidad genética dentro y entre cuatro localidades del Golfo de México y Mar Caribe Mexicano mediante las frecuencias alélicas, el F_{IS} y el F_{ST} .
- Estimar los niveles de estructuración genética entre cuatro localidades del Golfo de México y Mar Caribe Mexicano.

HIPÓTESIS

Si *Haemulon flavolineatum* presenta una fase larval corta y las condiciones oceanográficas (corrientes) favorecen su dispersión, entonces sus poblaciones estarán conectadas formando una población panmíctica entre el Banco de Campeche y el Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano.

4. REFERENCIAS

Appeldoorn R. S., A. Aguilar-Perera, B. L. K. Bouwmeester, G. D. Dennis, R. L. Hill, W. Merten, C. W. Recksiek, y S. J. Williams. 2009. Movement of fishes (Grunts: Haemulidae) across the coral reef seascape: A review of scales, patterns and processes. *Caribbean Journal of Science*. 45: 304-316.

Aquamaps. 2016. http://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular

Barden K. P., M. L. Wittenrich y E. J. Cassiano. 2014. Candidate Species for Marine Ornamental Aquaculture: French Grunt *Haemulon flavolineatum*. <http://edis.ifas.ufl.edu>. (Accesado septiembre 2015)

Beets J., L. Muehlstein, K. Haught y H. Schmitges. 2003. Habitat connectivity in coastal environments: patterns and movements of Caribbean coral reef fishes with emphasis on bluestriped grunt, *Haemulon sciurus*. *Gulf and Caribbean Research*. 14: 29-42.

Beheregaray L. B. y P. Sunnucks. 2001. Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. *Molecular Ecology*. 10:2849-2866.

Beltrán D. M., N. V. Schizas, R. S. Appeldoorn y C. Prada. 2017. Effective dispersal of Caribbean reef fish is smaller than current spacing among Marine Protected Areas. *Scientific Reports*. 7(1): 4689.

Cadrin S. X., K. D. Friedland y J. R. Waldman. 2005. *Stock Identification Methods: Application in Fishery Science*. Elsevier Inc. Burlington, United States. 680 p.

Carrillo L., E. M. Johns, R. H. Smith, J. T. Lamkin y J. L. Largier. 2015a. Pathways and hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System part 1: Circulation. *Continental Shelf*

Research. 109: 164-176.

Carrillo L., E. M. Johns, R. H. Smith, J. T. Lamkin y J. L. Largier. 2015b. Pathways and hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System part 2: Water masses and thermohaline structure. *Continental Shelf Research*. 120: 41-58.

Chávez-Hidalgo A. 2009 Conectividad de los Arrecifes Coralinos del Golfo de México y Caribe Mexicano. Tesis de Maestría. CICIMAR del IPN. La Paz, Baja California Sur.

Cowen R. K., K. M. Lwiza, S. Sponaugle, C. B. Paris y D. B. Olson. 2000. Connectivity of marine populations: Open or closed? *Science*. 287(5454): 857-859.

Cowen R. K., C. B. Paris y A. Srinivasan. 2005. Scaling of connectivity in marine populations. *Science*. 311: 522-527.

Cowen R. K. 2006. Larval dispersal and retention and consequences for population connectivity. en Sale P. F. *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complete ecosystem*. Elsevier. California, U. S. 549 p.

Curtis H., N. S. Barnes, A. Schnek y A. Massarini. 2011. *Biología*. Editorial Médica Panamericana. Séptima edición. Buenos Aires, Argentina. 1009 p.

Darcy G. H. 1983. Synopsis of biological data on the grunts *Haemulon aurolineatum* and *H. plumieri* (Pisces: Haemulidae). NOAA Technical Report NMFS Circular 448. FAO Fisheries Synopsis No. 133. 37 p.

Ellien C., E. Thiebaut, A. S. Barnay, J. C. Dauvin, F. Gentil y J. C. Salomon. 2000. The influence of variability in larval dispersal on the dynamics of a marine metapopulation in the eastern Channel. *Oceanologica Acta*. 23(4): 423-442.

Féral J. P. 2002. How useful are the Genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 268: 121-145.

Jackson A. M., B. X. Semmens, Y. S. de Mitcheson, R. S. Nemeth, S. A. Heppell, P. G. Bush, A. Aguilar-Perera, J. A. B. Claydon, M. C. Calosso, K. S. Sealey, M. T. Schärer y G. Bernardi. 2014. Population structure and phylogeography in Nassau grouper (*Epinephelus striatus*), a mass aggregating marine fish. *Plos ONE*. 9(5): e97508.

Johnes G. P., M Srinivasan, y G. R. Almany. 2007. Population connectivity and conservation of marine biodiversity. *Oceanography*. 20: 100-111.

Leis J. M., A. C. Hay, M. M. Lockett, J. P. Chen y L. S. Fang. 2007. Ontogeny of swimming speed in larvae of pelagic-spawning, tropical, marine fishes. *Marine Ecology Progress Series*. 349: 255-267.

Leis J. M. y B. M. Carson-Ewart. 2000. Behaviour of pelagic larvae of four coral reef fish species in the ocean and an atoll lagoon. *Coral Reefs*. 19(3): 247-257.

Lowe W. H. y F. W. Allendorf. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*. 19: 3038-3051.

Lindeman K. C. 1986. Development of larvae of the French grunt, *Haemulon flavolineatum*, and comparative development of twelve species of western Atlantic *Haemulon* (Perdoidei, Haemulidae). *Bulletin of Marine Science*. 39(3): 673-716.

Mateo I., E. Durbin, R. Appeldoorn, A. Adams, F Juanes y D. Durant. 2011. Inferred growth of juvenile French grunts, *Haemulon flavolineatum* and schoolmaster *Lutjanus apodus*, in mangrove and seagrass habitats. *Bull. of Mar. Sci.* 87: 339-350.
<http://dx.doi.org/10.5343/bms.2010.1064>

Mojekwu T. O. y C. I. Anumudu. 2013. Microsatellite markers in aquaculture: Application in fish population genetics. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. 5(4): 43-48.

Monreal-Gómez M. A., D. A. Salas-de-León y H. Velasco-Mendoza 2004. La hidrodinámica del Golfo de México. en: Caso M., I. Pisanty y E. Ezcurra. Diagnóstico ambiental del Golfo de México. Instituto Nacional de Ecología. 1ra edición. 627 p.

Moreno L. A. 2007. Tamaño efectivo de la población. en: Eguiarte L. E., V. Souza y X. Aguirre. *Ecología molecular*. SEMARNAT. Primera edición. 592 p.

McFarland W. N., E. B. Brothers, J. C. Ogden, M. J. Shulman, E. L. Bermingham y N. M. Kotchian-Prentiss. 1985. Recruitment patterns in young French grunts, *Haemulon flavolineatum* (Family Haemulidae), at St. Croix, Virgin Islands. *Fish. Bull.* 83: 413-426.

NOAA. 2013.
http://www.aoml.noaa.gov/phod/bin/phplib/popup_image.php?&pImgUrl=./fig_sat/gc//20130801_gc.gif&pPageUrl=http://www.aoml.noaa.gov/phod/dhos/altimetry.php&pSWidth=1366&pSHeight=768&pTitle=Aug%2001,%202013

O'Connell M., M. C. Dillon, J. M. Wright, P. Bentzen, S Merkouris y J. Seeb. 1998. Genetic structuring among Alaskan Pacific herring population identified using microsatellite variation. *Journal of Fish Biology*. 53: 150-163.

Planes S. 2006. Biogeography and larval dispersal inferred from population genetic analysis. en Sale P. F. *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complete ecosystem*. Elsevier. California, U. S. 549 p.

Palumbi S. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological Applications*. 13(1): 146-158.

Rimieri P. 2013. La estructura genética de poblaciones de plantas condiciona la interpretación de parámetros y su alcance en caracteres ecofisiológicos. *Journal of Basic and Applied Genetics*. 24(2): 5-10.

Rodríguez-Valencia J. A. 2007. La conectividad demográfica y el diseño de redes de áreas de conservación en el Golfo de California. 20 p. Disponible en <http://www.wwf.org.mx/wwfmex/publicaciones.php?tipo=reps>

Rocha L. A., K. C. Lindeman, C. R. Rocha y H. A. Lessios. 2008. Historical biogeography and speciation in the reef fish genus *Haemulon flavolineatum* (Teleostei: Haemulidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 48: 918-928.

Rosenblatt R. H. y R. S. Waples. 1986. A genetic comparison of allopatric populations of shore fish species from the Eastern and Central Pacific Ocean: dispersal or vicariance? *Copeia*. 1986: 275-284.

Sanches A. y P. M. Galetti. 2012. Population genetic structure revealed by a school of the freshwater migratory fish, *Brycon hilarii*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 40(2): 408-417.

Smith T. M. y R. L. Smith. 2007. *Ecología*. Sexta edición. Pearson Education. Madrid, España. 776 p.

Shulman M. J. y J. C. Ogden. 1987. What controls tropical reef fish populations: recruitment or benthic mortality? An example in the Caribbean reef fish *Haemulon flavolineatum*. *Marine Ecology-Progress Series*. 39: 233-242.

Slatkin M. 1994. Gene flow and population structure. en *Ecological Genetics*. Edited by L. Real Princeton University Press. Princeton, NJ. P. 3-17.

Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139(3): 457-462.

Swearer S. E., J. E. Caselle, D. W. Lea y R. R. Warner. 1999. Larval retention and recruitment in an Island population of a coral-reef fish. *Nature*. 402: 799-802.

Tay Y. C., A. M. E. Noreen, Suharsono, L. M. Chou y P. A. Todd. 2015. Genetic connectivity of the broadcast spawning reef coral *Platygyra sinensis* on impacted reefs, and the description of new microsatellite markers. *Cor. Reefs*. 34:301-311. DOI 10.1007/s00338-014-1206-6

Tello-Cetina J., L. Gómez-Victoria, R. Zamora-Bustillos, G. Rivera-Muñoz, S. Solís-Pereira y H. Loria-Sunza. 2013. Estructura genética del copépodo *Acartia lilljeborgii* en la costa del estado de Yucatán, México. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 41(5): 925-932.

Torres A. R., A. K. Grunvald, T. B. Martins, M. A. dos Santos, N. G. Lemos, L. A. S. Silva y M. Hungria. 2015. Genetic structure and diversity of a soybean germplasm considering biological nitrogen fixation and protein content. *Scientia Agricola*. 72(1): 47-52.

Williams D. A., J. Purcell, R. K. Cowen y C. R. Hughes. 2004. Microsatellite multiplexes for high-throughput genotyping of French grunts (*Haemulon flavolineatum*, Pisces: Haemulidae) and their utility in other grunt species. *Molecular Ecology Notes*. 4: 46-48.

El presente documento está elaborado en formato de la revista *Aquatic Living Resources*

5. ARTÍCULO CIENTÍFICO

Variación genética poblacional de *Haemulon flavolineatum* entre el Banco de Campeche y el Norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana mediante el uso de marcadores moleculares microsatélite.

Luis S. Zavala-Barrera¹, Carlos González-Salas*¹, Horacio Pérez-España, Sergio Guillén-Hernández¹

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil C. P. 97315, Yucatán, México

[*carlos.gonzalez@correo.uady.mx](mailto:carlos.gonzalez@correo.uady.mx)

Resumen

Se determinó la estructura genética de las poblaciones de *Haemulon flavolineatum* en cuatro localidades, dos ubicadas en el Banco de Campeche (Cayo Arcas y Arrecife Alacranes) y dos en el Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (Puerto Morelos y Banco Chinchorro) mediante el uso de marcadores moleculares (5 loci microsatélites). Se colectaron 50 ejemplares por cada localidad, se realizó la extracción, cuantificación y amplificación de ADN y finalmente, se observaron los productos de amplificación. Se evaluó la presencia de alelos nulos, la variabilidad genética intra e inter-regional, los componentes de variabilidad y el flujo genético. De los cinco microsatélites, uno presentó alelos nulos, por lo que sólo se consideraron los cuatro restantes para su posterior análisis. La mayor heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o) de cada locus se encontró en Banco Chinchorro (0.9076 y 0.9600, respectivamente). Al ser mayor la H_o que la H_e y el único sitio con exceso de heterocigotos ($F_{IS}=-0.02196$), se considera que Banco Chinchorro presenta una posible ruptura con el aislamiento, mientras que en los otros sitios se observa que son poblaciones heterogéneas con tendencia a homogeneizarse. El valor de consanguinidad (F_{IS}) fue de 0.09998 y el índice de fijación (F_{ST}) fue de 0.03444 indicando diferencias genéticas entre las

poblaciones. Las distancias genéticas de Nei (D_s) fueron más estrechas entre Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes (0.130). También presentaron el mayor número de migrantes efectivos por generación ($Nm=14.34$). Por otro lado, Puerto Morelos presentó mayor distancia genética con Banco Chinchorro (0.209), siendo geográficamente cercanos. *H. flavolineatum* presenta una estructura genética entre sus poblaciones, presentando diferencias entre y dentro las mismas, resultando cuatro poblaciones y posibles stocks entre los sitios muestreados. Al presentar una fase larval corta, la corriente de Yucatán y la de Lazo permiten su dispersión entre las poblaciones de la Barrera Arrecifal Mesoamericana y el Golfo de México, pero no son lo suficiente para homogeneizar las poblaciones para formar una población panmíctica.

Palabras clave: *Haemulon flavolineatum*, estructura genética, Banco de Campeche, Norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana, población panmíctica, microsatélites.

1 Introducción

Las comunidades marinas están determinadas principalmente por los eventos post-reclutamiento como la depredación, la competencia, las características del ambiente y los patrones de reproducción (McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987). Las diversas especies de peces marinos pasan por semanas como larvas pelágicas que son dispersadas hasta que se establecen como adultos. Estas larvas son consideradas reclutas que se integran a los arrecifes en un espacio y tiempo distinto, siempre y cuando exista espacio para albergarlos, permitiendo determinar el tamaño de la población (McFarland et al., 1985; Ellien et al., 2000; Cowen, 2006; Purcell et al., 2006; Lowe y Allendorf, 2010). Este proceso determina la escala espacial de la estructura poblacional y es crucial para la dinámica poblacional (Purcell et al., 2006). La descripción de la estructura poblacional es importante para la investigación y manejo de diversas especies marinas (O'Connell et al., 1998). Aunque existen poblaciones de organismos con una baja capacidad de dispersión, que presentan procesos de retención de reclutas o auto-reclutamiento (Swearer et al., 1999; Jones et al., 1999), también presentándose por el efecto de una baja velocidad de corriente (Jackson et

al., 2014).

El movimiento del agua en los sistemas biológicos, permite el reclutamiento de especies marinas (Cowen, 2006). El Sistema Arrecifal Mesoamericano se ubica al oeste del mar Caribe, abarcando México, Guatemala, Belice y Honduras, en esta zona la circulación oceánica está influenciada por el Atlántico con la corriente del Caribe que continúa hacia la Península de Yucatán (Muhling et al., 2013; Carrillo et al., 2015 a, b), donde cambia su dirección hacia el norte convirtiéndose en la corriente de Yucatán, la cual es introducida al Golfo de México (Muhling et al., 2013), que se convierte en la corriente de Lazo, que une la corriente de Yucatán y con la corriente de Florida (Monreal-Gómez et al., 2004).

Haemulon flavolineatum es importante ecológicamente ya que provee de importante energía a las comunidades arrecifales al ser una de las principales presas de organismos más grandes de interés comercial como lo son los meros y los pargos (Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; DOF, 2012; Barden et al., 2014). También conocido como ronco francés, *H. flavolineatum* es referido como un grupo de peces que se encuentran en mayor abundancia y biomasa en pastos marinos y en arrecifes coralinos (Beets et al., 2003; Barden et al., 2014). Tiene un desove en dos periodos en un año, durante primavera y verano en climas subtropicales (McFarland et al., 1985). Presenta dos fases durante su historia de vida, la primera en su forma larval, la cual durará 14 días y la segunda su asentamiento en los arrecifes coralinos (McFarland et al., 1985; Shulman y Ogden, 1987).

La biología de la conservación utiliza los marcadores genéticos y los análisis demográficos como herramientas esenciales para realizar investigaciones (Villegas-Hernández, 2010; Tay et al., 2015). Una dispersión restrictiva de individuos puede ocasionar un decremento en la variabilidad genética e incrementa la diferenciación entre poblaciones, provocando una selección local, endogamia o deriva génica. La estructura genética de una población se puede dar por el comportamiento larval y por la hidrografía local (Goldson et al., 2000). Diversos estudios han mostrado que las poblaciones marinas están más estructuradas que lo que se esperaba a partir de su dispersión. Estudios previos sobre estructura genética de poblaciones

han utilizado diversas técnicas como aloenzimas, ADN mitocondrial, Polimorfismo de Nucleótido Simple (SNP's por sus siglas en inglés) y microsatélites, obteniendo éxito en sus resultados sobre la estructura de las poblaciones (Purcell et al., 2006; Beltrán et al., 2017). Los microsatélites presentan una tasa de mutación de 5×10^{-4} por locus por año, siendo un año por cada generación (Beltrán et al., 2017), lo que permite que se observen cambios en un tiempo prolongado dentro de una población y no por cada individuo. La caracterización de la estructura genética poblacional, es importante para el estudio de especies marinas con una importancia comercial y ecológica, ya que indica si las poblaciones en amplias regiones geográficas son homogéneas o heterogéneas (Tello-Cetina et al., 2013; Ellis et al., 2017).

El presente estudio, tuvo como objetivo determinar la estructura genética de las poblaciones de *Haemulon flavolineatum* en cuatro sitios entre las regiones Banco de Campeche y el Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano mediante el uso de microsatélites. Los microsatélites son una herramienta en estudios de evolución molecular, identificación de stocks genéticos y análisis de stocks genéticos mezclados (Slatkin, 1995; Williams et al., 2004; Cadrin et al., 2005; Mojekwu y Anumudu 2013). Los microsatélites fueron seleccionados por mostrar una alta variabilidad genética y con frecuencia revelan una mejor solución que otros marcadores en la determinación de poblaciones (Slatkin, 1995; O'Connell et al., 1998; Williams et al., 2004, Cadrin et al., 2005; Mojekwu y Anumudu, 2013). Esto permitirá conocer el número de poblaciones de *H. flavolineatum* en la Península de Yucatán, usando esta especie como modelo ecológico; debido a que esta especie es de importancia tanto ecológica como económica, porque provee de energía a las comunidades arrecifales al ser presa de especies de interés comercial (Darcy, 1983; Appeldoorn et al., 2009; Mateo et al., 2011; Barden et al., 2014).

2 Material y métodos

2.1 Localidades de muestreo

El presente estudio se realizó en cuatro localidades: Cayo Arcas y Arrecife Alacranes en el

Banco de Campeche, localizados en el Golfo de México, y Puerto Morelos y Banco Chinchorro al Norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano en el Mar Caribe (Figura 1).

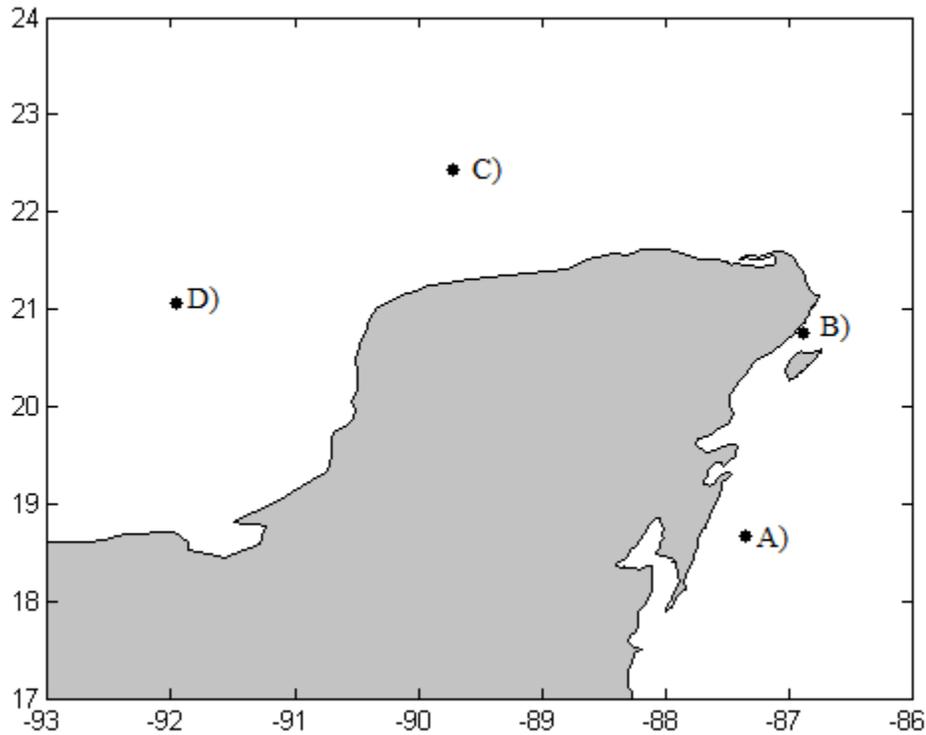


Figura 1. Localidades de muestreo A) Banco Chinchorro; B) Puerto Morelos; C) Arrecife Alacranes; D) Cayo Arcas

2.2 Trabajo en campo

En cada sitio se recolectaron 50 ejemplares adultos de *H. flavolineatum* en julio-agosto del 2013 mediante el uso de arpón. Los ejemplares colectados se congelaron y fueron transportados al Departamento de Biología Marina de la Universidad Autónoma de Yucatán para su posterior proceso en el laboratorio.

2.3 Trabajo en laboratorio

En el laboratorio se tomó una fracción del tejido de las branquias de cada individuo y se colocó en un microtubo con etanol al 90% y se almacenaron a una temperatura de -20°C para su posterior análisis.

2.3.1 Extracción y cuantificación de ADN

La extracción del ADN de las muestras de *H. flavolineatum*, se realizó utilizando el kit de purificación (Invitrogen™) y para su corroboración se llevó a cabo mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio y observados en un trasluminador con luz ultravioleta. Se cuantificó la concentración de ADN (ng/μl) de cada muestra con un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific®), lo anterior debido a que se necesitaron de 80 a 100 ng de ADN total para cada reacción de PCR.

2.3.2 Amplificación de los marcadores genéticos poblacionales

Cinco regiones microsatélites *HfAAC51*, *HfAAC54*, *HfAAC31*, *HfAAC46* y *HfAAC10* del genoma de *H. flavolineatum* se amplificaron por PCR a partir de las secuencias descritas por Williams et al. (2004). Se utilizó una concentración de trabajo de 20 μl conformada por 1.2 μl de ADN (~100 ng/μl) y 18.8 μl de mix, el cual constó de 11.6 μl de agua destilada ultrapura, 2.5 μl del buffer 10X ThermoPol de *BioLabs*® (10 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM Tris-HCl, 2 mM (MgSO₄), 0.1% Triton X-100 a pH 8.8), 1.5 μl de MgCl₂ (50 mM), 2 μl de dNTP's (10mM), 0.5 μl de cada cebador (Forward y Reverse) (10 mM) y 0.2 μl de Taq DNA polimerasa (5,000 U/μl) (*BioLabs*®). La amplificación por PCR se llevó a cabo utilizando un termociclador TC-412 (TECHNE®), programado de la siguiente manera: 5 min a 94°C para la desnaturalización inicial del ADN, 30 ciclos a 94°C para el alineamiento de cada primer (50°C para *HfAAC54* y *HfAAC51*; 55°C para *HfAAC31*, *HfAAC46* y *HfAAC10*), 30 s a 72° para la extensión seguida de una extensión final por 5 min a 72°C.

Para verificar la correcta amplificación de los fragmentos satelitales de interés, los productos

obtenidos de la PCR se corrieron bajo electroforesis en geles de agarosa al 2%, junto con un marcador de tallas de 100 pares de bases (Promega®), para ser visualizados en un trasluminador de luz ultravioleta.

Electroforesis en geles de poliacrilamida

Los productos obtenidos de la amplificación, se separaron con un equipo de electroforesis vertical Sequi-GenII® GT Sequencyng Cell (BIO-RAD), en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 6%. La electroforesis, tinción y revelado de los geles, se basó en el protocolo de Bassam y Cactano-Anollés (1993) con las modificaciones realizadas por Villegas-Hernández (2010). Después de haber sido revelados los geles, la lectura y determinación del tamaño de cada alelo en cada ejemplar del ronco francés, se realizó de manera directa mediante la alineación de los fragmentos de cada individuo, tomando como guía marcador de talla de 50 pares de bases (Promega®) incluido en los geles.

2.4 Análisis de datos

2.4.1 Análisis de alelos nulos

Para detectar alelos nulos y errores de genotipificación, se realizó una matriz de ausencia/presencia y se analizó con el programa Micro-Checker v.2.3.3 (Villegas-Hernández, 2010). La frecuencia de los alelos nulos (r) fue calculado utilizando el método matemático de Brookfield (1996), para cada población de cada *locus*. De manera que, si se encontraba algún locus microsatélite con presencia de alelos nulos, dicho locus tendría que ser eliminado de los análisis subsiguientes.

2.4.2 Variabilidad genética intra-regional

Para estimar la variabilidad genética intra-regional a partir de las frecuencias alélicas

provenientes de los genotipos encontrados con los *loci* microsatélites, se realizó mediante los programas Genetix v.4.04 y Arlequin v.3.1, a partir del número de alelos por locus (N_a), la frecuencia alélica (p_i), la heterocigosidad observada (H_o) y la heterocigosidad esperada (H_e) (en equilibrio de Hardy-Weinberg). Se utilizó el estimador F_{IS} usando las frecuencias alélicas de los microsatélites para probar si las regiones de colecta de *H. flavolineatum* se encuentran bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg, evaluando la significancia estadística del estimador en un sistema de 10,000 permutaciones.

2.4.3 Variabilidad genética inter-regional

La variabilidad genética inter-regional se evaluó a través de los F estadísticos de Wright (1978) modificados por Weir y Cockerham (1984), el coeficiente de consanguinidad (F_{IS}) y el índice de fijación (F_{ST}). Se analizaron dichos índices para toda la población y de manera pareada para los sitios de muestreo, la significancia estadística de estos estimadores fue probada con el método de remuestreo Jackknife con 10,000 permutaciones sobre los *locus* y localidades (Villegas-Hernández, 2010), utilizando el programa Genetix v.4.04. Del mismo modo, los valores de probabilidad de las pruebas de comparaciones múltiples se fueron modificando con la corrección secuencial de Bonferroni para darle mayor robustez a la prueba (Rice, 1989).

Se llevó a cabo un análisis pareado de distancias genéticas entre sitios a partir del índice de Nei (D_s) (1978) con el programa Genetix v.4.04. Se evaluó con el programa IBD v.1.53 la correlación de la distancia geográfica sobre la diferenciación genética mediante la prueba de Mantel para observar la presencia de aislamiento por distancia. De este modo, se obtuvo la correlación entre la matriz de distancias (km) entre los sitios de muestreo y la matriz de índices de distancias genéticas previamente calculados (D_s). Finalmente, se realizó un dendrograma usando la matriz de distancias pareadas de Nei (D_s) (1978), elaborado en base al método del grupo de pares no ponderado con media aritmética (Unweighted Pair Group with Mean Arithmetic), se obtuvieron los valores de bootstrap con 10,000 permutaciones sobre los *locus* con el programa POPULATIONS v1.2.30 y visualizados en el programa

TREEVIEW 1.6.6.

Los componentes de la variabilidad genética (inter e intra-regional) se desarrollaron con un análisis de la varianza molecular (AMOVA), multilocus y por *locus*, con el programa Arlequin v.3.1 empleando 10,000 permutaciones y utilizando las distancias genéticas calculadas (D_s).

2.4.4 Flujo genético

El flujo genético determina el grado de aislamiento para cada población y su identidad como unidad evolutivamente independiente (Wright, 1969), se estimó con el programa Genetix v.4.04. Por lo tanto, el flujo genético es el número de migrantes entre pares de poblaciones por generación, en donde aquellos individuos que son reproductivamente exitosos después de la migración, contribuyen al flujo genético (Villegas-Hernández, 2010).

3 Resultados

Se recolectaron 200 individuos de *H. flavolineatum* en Banco Chinchorro (N= 50), en Puerto Morelos (N= 50), en Arrecife Alacranes (N= 50) y en Cayo Arcas (N= 50).

3.1 Análisis de alelos nulos

Las frecuencias esperadas de los alelos nulos, basadas en el método de Brookfield (1996), de cada población y cada locus, indicó que el microsatélite HfAAC10 ($r= 0.0701$) presentó un exceso de alelos nulos, mientras que HfAAC54 ($r= -0.023$), HfAAC46 ($r= -0.0396$), HfAAC31 ($r= 0.0133$) y HfAAC51 ($r= -0.0279$) no mostraron evidencia de la existencia de alelos nulos en las cuatro regiones. Por lo tanto, el microsatélite HfAAC10 fue eliminado de los análisis subsiguientes.

3.2 Variabilidad genética intra-regional

El número de alelos por locus osciló entre 11 y 15 (promedio=11) considerando los cuatro sitios de muestreo, donde el HfAAC46 fue el locus con el mayor número de alelos, seguidos el locus HfAAC51 con 14, HfAAC31 con 12 y finalmente el HfAAC54 con 11 alelos.

La mayor riqueza alélica se observó en Banco Chinchorro con 47 alelos, seguido por Arrecife Alacranes y Cayo Arcas ambos con 45 alelos y finalmente Puerto Morelos con 43 alelos (Tabla 1).

Tabla 1. Número de alelos para cada locus por población de *H. flavolineatum*.

Locus/Población	Banco Chinchorro	Puerto Morelos	Arrecife Alacranes	Cayo Arcas
HfAAC54	8	9	9	11
HfAAC46	14	12	12	10
HfAAC31	12	10	11	12
HfAAC51	13	12	13	12
Total	47	43	45	45

En cuanto a las frecuencias alélicas (\hat{p}_i), los alelos más comunes para el locus HfAAC54 fueron el 174 en Banco Chinchorro ($\hat{p}_i=0.2400$), el 202 en Puerto Morelos ($\hat{p}_i=0.2800$), y el 200 para Arrecife Alacranes y Cayo Arcas ($\hat{p}_i=0.2200$; $\hat{p}_i=0.2000$ respectivamente). Para el locus HfAAC46, los alelos más comunes fueron el 232 en Banco Chinchorro ($\hat{p}_i=0.1300$), el 252 en Puerto Morelos ($\hat{p}_i=0.1600$), el 254 en Arrecife Alacranes ($\hat{p}_i=0.2000$) y el 224 en Cayo Arcas ($\hat{p}_i=0.3600$). Para el locus HfAAC31, los alelos más comunes fueron el 114 para Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes ($\hat{p}_i=0.2400$; $\hat{p}_i=0.2600$ respectivamente), el 106 en Puerto Morelos ($\hat{p}_i=0.3100$) y el 098 en Cayo Arcas ($\hat{p}_i=0.2100$). Finalmente, para

el locus HfAAC51, los alelos más comunes fueron el 050 en Banco Chinchorro, Arrecife Alacranes y Cayo Arcas ($\hat{p}_i=0.1600$; $\hat{p}_i=0.1600$; $\hat{p}_i=0.1800$ respectivamente) y el 062 en Puerto Morelos ($\hat{p}_i=0.1500$).

En la heterocigosidad esperada (He) y la heterocigosidad observada (Ho) se observa una alta tasa de heterocigosis en todos los locus en las cuatro poblaciones. El valor más bajo de He se presentó en el locus HfAAC46 en el sitio de Cayo Arcas ($He= 0.8092$), mientras que el valor más alto lo presentó el mismo locus del sitio Banco Chinchorro ($He= 0.9076$). A su vez, el valor de Ho más bajo lo presentó el locus HfAAC46 en el sitio de Cayo Arcas ($Ho= 0.7200$), mientras que el valor más alto lo presentó el mismo locus en el sitio de Banco Chinchorro ($Ho= 0.9600$) (Tabla 2).

Los valores de heterocigosidad observada son mayores que la esperada en Banco Chinchorro, mientras que en Puerto Morelos y la región del Banco de Campeche presentaron valores de heterocigosidad esperada mayor que la observada (Tabla 2 y 3).

Tabla 2. Heterocigosidad esperada (He) y heterocigosidad observada (Ho) de cada locus en cada población.

<i>Locus</i>	<i>Banco Chinchorro</i>		<i>Puerto Morelos</i>		<i>Arrecife Alacranes</i>		<i>Cayo Arcas</i>	
	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>
HfAAC54	0.8372	0.8800	0.8200	0.7800	0.8412	0.8200	0.8688	0.8400
HfAAC46	0.9076	0.9600	0.8888	0.8000	0.8510	0.9200	0.8092	0.7200
HfAAC31	0.8578	0.8200	0.8258	0.7800	0.8598	0.8600	0.8702	0.8600
HfAAC51	0.8856	0.9400	0.8900	0.8000	0.8428	0.8200	0.8972	0.8400

Aunado a lo anterior, se analizó la He y Ho de cada sitio, siendo Puerto Morelos el sitio con una menor heterocigosidad esperada ($He=0.8562$) y Banco Chinchorro con la mayor ($He=0.8721$). Del mismo modo resultó Puerto Morelos con la menor heterocigosidad observada ($Ho=0.7900$) y Banco Chinchorro con la mayor ($Ho=0.9000$) (Tabla 3).

Tabla 3. Heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o) en cada sitio muestreado.

Región	He	Ho
<i>Banco Chinchorro</i>	0.8721	0.9000
<i>Puerto Morelos</i>	0.8562	0.7900
<i>Arrecife Alacranes</i>	0.8616	0.8550
<i>Cayo Arcas</i>	0.8613	0.8150

3.3 Variabilidad genética inter-regional

El resultado de los estadísticos F para cada uno de los 4 microsatélites indica que el efecto de cada uno de los locus es similar, por el cual, pueden ser utilizados para analizar la estructura o conectividad genética de los sitios de muestreo (Tabla 4). El valor multilocus del F_{IS} (0.03649; $p > 0.01$) revelan que las cuatro localidades estuvieron ligeramente desviadas del equilibrio de Hardy-Weinberg y mientras que el valor de F_{ST} (0.06682; $p < 0.01$) resultantes del análisis multilocus de la población total indicó que existe estructura poblacional entre las cuatro localidades (Tabla 5).

Tabla 4. Estadísticos F de Wright (1978) modificados por Weir y Cockerham (1984). Coeficiente de consanguinidad (F_{IS}) e índice de fijación (F_{ST}) en los cuatro locus microsatélites de los cuatro sitios muestreados.

Locus	F_{IS}	F_{ST}
HfAAC54	0.02412	0.03468
HfAAC46	0.02647	0.04997
HfAAC31	0.03751	0.02525
HfAAC51	0.05689	0.01588

Tabla 5. Estimaciones multilocus de la desviación de la proporción de Hardy-Weinberg a partir del estimador F_{IS} para los 4 locus microsatélites de los sitios muestreados.

Sitios	F_{IS}	Valor de p
<i>Banco Chinchorro</i>	-0.02196	>0.01
<i>Puerto Morelos</i>	0.08730	>0.01
<i>Arrecife Alacranes</i>	0.01770	>0.01
<i>Cayo Arcas</i>	0.06388	>0.01

El índice F_{ST} , mostró una estructuración entre las cuatro localidades muestreadas (Tabla 6). Para el análisis pareado de distancias genéticas entre localidades a partir del índice de Nei (D_s) (Nei, 1978) se obtuvo que las localidades de Cayo Arcas y Banco Chinchorro son las que presentan una mayor distancia genética entre sí ($D_s= 0.398$); mientras que las que tienen una menor distancia genética son Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro ($D_s= 0.130$) (Tabla 6). El análisis de Mantel sobre las distancias geográficas con las distancias genéticas (D_s) entre sitios no tuvo correlación ni fue significativo ($R^2= 0.1332$, $p=0.4330$).

Tabla 6. Matriz de significancia de los patrones de similitud según Weir y Cockerham (1984) (encima de la diagonal principal) mediante los índices F_{ST} pareados para 4 locus microsatélites entre pares de regiones. Debajo de la diagonal principal se describe la matriz de las distancias genéticas obtenidas del índice de Nei (1978) para los 4 locus microsatélites entre localidades.

Localidades	<i>Banco Chinchorro</i>	<i>Puerto Morelos</i>	<i>Arrecife Alacranes</i>	<i>Cayo Arcas</i>
<i>Banco Chinchorro</i>	-	0.026660 **	0.01714 **	0.04453 **
<i>Puerto Morelos</i>	0.209	-	0.03170 **	0.03890 *
<i>Arrecife Alacranes</i>	0.130	0.246	-	0.02953 **
<i>Cayo Arcas</i>	0.0398	0.315	0.232	-

* Valores significativos ($p=0.01$). ** Valores significativos ($p<0.001$)

El dendrograma de distancias pareadas de Nei muestra similarmente las distancias genéticas

entre Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes con un 50% de confiabilidad, del mismo modo que ambos con Puerto Morelos (50%), mientras que con Cayo Arcas es de un 61% (Figura 2).

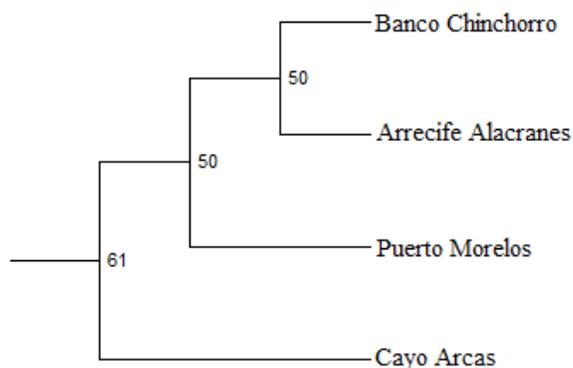


Figura 2. Dendrograma a partir de las distancias pareadas de Nei (Nei, 1983), construido en base al método del grupo de pares no ponderado con media aritmética (Unweighted Pair Group with Mean Arithmetic) de los 4 locus en los 4 sitios.

En el análisis molecular de varianza (AMOVA) multilocus se observó que existen diferencias entre las localidades ($F_{ST}=0.03184$). Asimismo el mayor porcentaje de variación se obtuvo dentro de los sitios (96.82%), mientras que la variación entre sitios fue menor (3.18%) (Tabla 7).

Tabla 7. AMOVA multilocus para los 4 locus microsatélites entre sitios.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Valor de p	F_{ST}
Entre sitios	22.425	0.05732	3.18	0.0001	0.03184
Dentro de los sitios	690.220	1.74298	96.82		
Total	712.645	1.80030			

El análisis molecular de varianza (AMOVA) para cada uno de los 4 locus microsatélites resultaron significativos ($p<0.0001$), esto debido a que cada locus reconoce similarmente la

variación existente entre localidades al analizar su estructura genética poblacional (Tabla 8).

Tabla 8. AMOVA *locus* por *locus* para los sitios muestreados.

<i>Locus</i>	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Porcentaje de variación	Valor de <i>p</i>	<i>F_{ST}</i>
<i>HfAAC46</i>	5.89000	3	3.49164	0.0001	0.03492
<i>HfAAC54</i>	8.23250	3	5.02208	0.0001	0.05022
<i>HfAAC31</i>	4.69250	3	2.56172	0.0001	0.02562
<i>HfAAC51</i>	3.61000	3	1.64433	0.0001	0.01644

3.4 Flujo genético

El valor más bajo de los migrantes efectivos por generación entre pares de regiones (*Nm*) se encontró entre Banco Chinchorro y Cayo Arcas (*Nm*=5.36), mientras que el mayor se registró entre Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes (*Nm*=14.34) (Tabla 9).

Tabla 9. Matriz de la estimación multilocus del flujo genético (*Nm*) según Wright (1969) (arriba de la diagonal principal) y debajo de la diagonal principal la significancia de los patrones de similitud mediante los índices *F_{ST}* según Weir y Cockerham (1984) para los 4 *locus* microsatélites entre sitios.

<i>Nm</i>	<i>Banco Chinchorro</i>	<i>Puerto Morelos</i>	<i>Arrecife Alacranes</i>	<i>Cayo Arcas</i>
<i>Banco Chinchorro</i>	-	9.13	14.34	5.36
<i>Puerto Morelos</i>	0.04530 *	-	7.64	6.18
<i>Arrecife Alacranes</i>	0.02234 *	0.03826 *	-	8.22
<i>Cayo Arcas</i>	0.04324 *	0.03413 *	0.02318 *	-

* Valores significativos ($p < 0.05$).

4. Discusión

De los 5 locus microsatélites empleados de *H. flavolineatum*, sólo HfAAC10 presentó un exceso de alelos nulos, por lo que fue eliminado, mientras que los otros cuatro locus microsatélites demostraron ser muy útiles para el estudio al no presentar significativamente la existencia de alelos nulos en cada sitio.

Los alelos por locus encontrados en cada uno de los microsatélites usados en el presente estudio fueron bajos, ya que solo se encontraron 52 alelos, con un promedio de 11 alelos por locus; esto se debe a la presencia de heterocigotos entre las poblaciones de los 4 sitios muestreados. En otros estudios con microsatélites del ronco francés se encontró un número mayor de alelos; Williams et al. (2004), encontraron 101 alelos para los mismos cuatro microsatélites y Purcell et al. (2006), obtuvieron un promedio de 26 alelos por locus en su estudio en todo el Caribe, debido a la presencia de un aislamiento por distancia entre las poblaciones muestreadas.

Los valores de heterocigosidad observada fueron mayores que los de heterocigosidad esperada en la localidad de Banco Chinchorro, por el contrario, las localidades de Puerto Morelos, Arrecife Alacranes y Cayo Arcas presentan valores de heterocigosidad esperada mayores a la observada, asimismo Banco Chinchorro es la única localidad que presenta un exceso de heterocigotos ($F_{IS}=-0.02196$), por lo que se asume que en dicha localidad hay un efecto de ruptura del aislamiento entre poblaciones previamente separadas, mientras que en Puerto Morelos y el Banco de Campeche se observa que son poblaciones heterogéneas con una tendencia a homogeneizarse debido al flujo de migrantes entre poblaciones ($\bar{x}= 8.48$). Villegas-Hernández (2010) obtuvo una H_o mayor que la H_e , atribuyéndolo al exceso de heterocigotos provocado por el bajo flujo genético entre las poblaciones de *H. plumieri* al norte de la península de Yucatán. Por otro lado, Zatzoff et al. (2004) Purcell et al. (2006) y Ospina-Guerrero et al. (2008) obtuvieron una H_e mayor que H_o en *Epinephelus morio* y *Mycteroperca phenax*, *H. flavolineatum* y *Stegastes partitus* respectivamente, debido a los migrantes que hay entre las poblaciones provocado por las corrientes, retención larval y

distribución de las mismas. Asimismo, Quezada-Euán et al. (2007) y Tay et al. (2014) obtuvieron la H_e mayor que la H_o , debido al impacto antropogénico en las poblaciones de abejas y corales respectivamente.

Los valores de heterocigosis resultantes demuestran que existe un déficit de heterocigotos en cada sitio muestreado, a excepción de Banco Chinchorro, del mismo modo, las estimaciones de F_{IS} (0.03649) y F_{ST} (0.06682) obtenidas en el análisis multilocus, provocan un ligero desvío en el equilibrio de Hardy Weinberg ($p < 0.001$), formando una estructura poblacional en los sitios. La estructura genética poblacional es debido al limitado intercambio de individuos entre las distintas poblaciones (Sanches y Galetti, 2012; Beltrán et al., 2017) y el bajo flujo de genes no permite la total homogeneización de la población.

El déficit de heterocigotos de *H. flavolineatum* puede deberse al efecto Wahlund o a la subdivisión de una población que conlleva pérdida de heterocigosis (Montes-Díaz et al., 2015), debido a que se encontró una diferencia genética entre las poblaciones (Purcell et al., 2006), así como un apareamiento selectivo debido a su comportamiento durante la reproducción, que involucra la selección del macho por la producción de sonido durante el cortejo (Barden et al., 2014) y la dispersión de larvas por corrientes marinas. Ospina-Guerrero et al. (2008) reportan un déficit de heterocigotos de *Stegastes partitus* en el Caribe colombiano, donde sugiere que es debido a endogamia y apareamiento asociativo, lo que conlleva a que esta especie tenga una baja estructura poblacional. Asimismo, Zatzoff et al. (2004) reportan déficit de heterocigotos en *Epinephelus morio* y *Mycteroperca phenax* en el Golfo de México y sur de la costa Este de los Estados Unidos, sugiriendo que no existen diferencias entre las poblaciones de *M. phenax* debido a la presencia de alelos nulos; del mismo modo. Tay et al. (2014) reportan un déficit de heterocigotos en *Platygyra sinensis* en Singapur e Indonesia dado por la presencia de alelos nulos, así como niveles de F_{IS} bajos dados por posible endogamia. Por otro lado Villegas-Hernández (2010), reporta un exceso de heterocigotos en *Haemulon plumieri* debido a la insuficiencia de migrantes entre regiones al Norte de la Península de Yucatán.

El análisis de distancias genéticas entre sitios (índice de Nei, 1978) mostró que el Banco Chinchorro y Arrecife Alacranes son los sitios genéticamente más cercanos, pero no son los geográficamente más cercanos, mientras que Banco Chinchorro y Cayo Arcas fueron genética y geográficamente más lejanos; por lo tanto, la prueba de Mantel no encontró correlación entre la distancia geográfica y genética en las poblaciones locales. Estos resultados se apoyan aún más con el AMOVA donde se observan las diferencias significativas entre sitios ($F_{ST}=0.03184$, $p<0.0001$). Asimismo, el flujo genético observado sugiere que el número de migrantes efectivos por generación no son lo suficientemente importantes para homogenizar las poblaciones de los sitios muestreados, fortaleciendo la idea de que el auto-reclutamiento mantiene la dinámica poblacional de estos sitios, así como se presenta en *Haemulon plumieri* (Villegas-Hernández, 2010). Las poblaciones de *H. flavolineatum* están parcialmente sustentadas en el auto-reclutamiento, así como en poblaciones de otras especies arrecifales tales como *Pomacentrus amboinensis* (Jones et al., 1999) y *H. plumieri* (Villegas-Hernández, 2010). Esta condición sucede cuando existe un bajo número de migrantes entre sitios con bajos niveles de F_{ST} . Si existe la presencia de más de 10 migrantes por generación, conlleva a una alta conectividad (Purcell et al., 2006), aunque pueden presentarse excepciones, donde más de 10 migrantes no son suficientes para homogeneizar las poblaciones, como lo es en el presente estudio, donde a pesar de los altos niveles de F_{ST} y con el bajo número de migrantes, las poblaciones de *H. flavolineatum* están conectadas, pero no son homogéneas. A pesar de ello, Cowen et al. (2005) consideran que en el Caribe mexicano el porcentaje de auto-reclutamiento es bajo (9%) en comparación con otros países del Caribe como Colombia (57%).

En el Caribe mexicano, los niveles de reclutamiento de peces arrecifales son bajos en comparación con los que se presentan en el Caribe colombiano o en el oriente del Caribe (Cowen et al., 2005). La supervivencia de las larvas de *H. flavolineatum* es mayor al 10.6% considerándolos como una especie con una alta tasa de reclutamiento (Shulman y Ogden, 1987). Asimismo, su elevado flujo genético, se debe a que su reproducción que es durante los meses de mayo-junio y septiembre-octubre con un desove pelágico (McFarland et al., 1985), está relacionado con la velocidad de corrientes (Williams et al. 2004; Francisco et al.,

2006; Ospina-Guerrero et al., 2008), y las mayores velocidades de corriente se observan durante los meses de abril hasta junio (Carrillo et al., 2015 a), lo que puede mejorar la dispersión larval entre los sitios del Norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana hacia el Golfo de México y Florida (Carrillo et al., 2015 b). Por otro lado, Muhling et al. (2013) considera que el desplazamiento por corrientes en el norte de la Barrera Arrecifal Mesoamericana en dos semanas es desde Banco Chinchorro hasta Florida, Cuba y Arrecife Alacranes, lo que permite suponer porque la población de *H. flavolineatum* en Banco Chinchorro es más similar genéticamente con Arrecife Alacranes que con Puerto Morelos.

La conectividad entre poblaciones puede estar limitada si se presenta un flujo genético reducido, como consecuencia de la topografía de la costa y las condiciones oceanográficas como pueden ser corrientes fuertes, discontinuidades oceanográficas o la estratificación en la columna del agua (Zatcoff et al. 2004; Francisco et al. 2006; Purcell et al., 2006; Ospina-Guerrero et al., 2008; García-Merchán, 2012). En la Barrera Arrecifal Mesoamericana dos corrientes son las que tienen mayor impacto, la corriente de Caimán y la Corriente de Yucatán, siendo la segunda la de mayor influencia en las localidades del presente estudio. Esta corriente se divide bifurcándose alrededor de la isla de Cozumel aumentando su velocidad (>2 m/s) al norte, para mantener una velocidad de 0.5 m/s cercano a la costa (Carrillo et al., 2015 a; Carrillo et al., 2015 b). Dicho aumento en la velocidad provoca la baja similitud genética entre Banco Chinchorro y Puerto Morelos, a pesar de la corta distancia geográfica, debido a que Puerto Morelos es la única localidad que no es una isla. Por otro lado, Chávez-Hidalgo (2009) menciona que los arrecifes de coral del Caribe tienen una mayor similitud biológica con los del Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV), esto debido a que las poblaciones tienen un transporte directo por el canal de Yucatán hacia sitios internos al Golfo de México. Asimismo, Chávez-Hidalgo (2009) sugiere que existe una conexión entre los arrecifes de Banco Chinchorro hasta la Isla Contoy, donde se divide en dos rutas, la primera hacia el interior del Golfo de México hacia el Arrecife Alacranes, hasta la región noroeste del Golfo en Isla Lobos, bajando hacia Tuxpam al norte de Veracruz hacia el SAV; la segunda es de Arrecife Alacranes hacia el sur del Golfo de México hacia el Arrecife Triángulos o a Cayo Arcas.

Además de la intensa velocidad de la corriente de Yucatán (promedio=1.5m/s), existen otros factores ambientales y geográficos por los cuales Puerto Morelos presenta una diferencia genética mayor a Arrecife Alacranes con Banco Chinchorro, ya que Puerto Morelos es el único sitio de muestreo ubicado en la costa, también es debido a que, a pesar de que presenta una comunidad coralina abundante y diversa, no forma ninguna estructura arrecifal ya que es físicamente controlado por condiciones ambientales severas como la presencia de una baja pendiente del sustrato arrecifal, acumulación de sedimento y resuspensión y transporte por el oleaje (INE, 2000). Por lo tanto, las poblaciones ícticas tienen un menor tamaño en este sitio, mostrando que Puerto Morelos presentó el mayor índice de F_{IS} y la menor heterocigosidad observada en los cuatro locus microsatélites entre los cuatro sitios.

En la presente investigación *Haemulon flavolineatum* no presenta un patrón de aislamiento por distancia debido a que no existe una correlación entre las distancias genéticas y geográficas ($R^2=0.1332$, $p=0.4330$), también porque el F_{ST} de toda la muestra fue bajo (0.034), del mismo modo, el elevado número de migrantes efectivos por generación ($\bar{x}=8.48$), también debido a que el muestreo fue realizado a no más de aproximadamente 959 km y *H. flavolineatum* presenta una alta retención en su arrecife natal (Purcell et al., 2006). Del mismo modo Zatzoff et al. (2004), demostraron que las poblaciones de *Epinephelus morio* y *Mycteroperca phenax* presentaron un bajo F_{ST} (<0.05) y baja heterocigosidad observada ($H_o=0.68$ y 0.65 , respectivamente) considerándose que no presentan aislamiento por distancia. Por el contrario, Beheregaray y Sunnucks (2001) encontraron que *Odontesthes argentinensis* presenta aislamiento por distancia con un elevado F_{ST} y migrantes. Purcell et al. (2006), demostraron que *H. flavolineatum* presenta un aislamiento por distancia en las poblaciones que se encuentran en todo el Caribe, presentándose en una escala de aproximadamente 900 km, con parches cada 1500-2000 km. Por otro lado *H. plumieri* presenta el modelo de aislamiento por distancia en sitios cercanos al norte de Yucatán (Villegas-Hernández, 2010). Del mismo modo Cowen et al., (2005) menciona que México presenta poblaciones de peces con una conectividad tipo “stepping-stone” o aislamiento genético a escala regional, en particular *H. flavolineatum*, debido a su baja duración larval y a la retención en su arrecife natal (Purcell et al., 2006).

Finalmente *H. flavolineatum* presenta poblaciones que han mantenido su diversidad genética, conservando un flujo genético que no es lo suficientemente alto para modificar la estructura genética en sus poblaciones que propicia a que las poblaciones sean genéticamente distintas para evitar panmixia. Del mismo modo, el bajo F_{ST} es debido a que el ronco francés es una especie con una gran abundancia, amplia distribución y no presenta barreras en el flujo genético como en peces dulceacuícolas (Sanches y Galetti, 2012) o en especies terrestres que han presentado alguna perturbación antropogénica como *Sylvilagus transitionalis* (Fenderson et al., 2011) y *Mellipora beecheii* (Quezada-Euán et al., 2007).

5. Conclusiones

Haemulon flavolineatum presenta una estructura genética en las localidades de la Barrera Arrecifal Mesoamericana y el Banco de Campeche, con diferencias genética entre las poblaciones muestreadas.

Para las localidades muestreadas de *H. flavolineatum* presenta cuatro poblaciones genéticamente estructuradas con una alta variabilidad poblacional entre las localidades de Banco Chinchorro, Puerto Morelos, Arrecife Alacranes y Cayo Arcas.

De acuerdo a la literatura, *H. flavolineatum* presenta una fase larval corta y también las condiciones oceanográficas que se presentan en el área de estudio permiten su dispersión, pero no lo suficiente para homogeneizar las poblaciones descartando así la panmixia entre las cuatro localidades.

Referencias

Appeldoorn R. S., A. Aguilar-Perera, B. L. K. Bouwmeester, G. D. Dennis, R. L. Hill, W. Merten, C. W. Recksiek, y S. J. Williams. 2009. Movement of fishes (Grunts: Haemulidae) across the coral reef seascape: A review of scales, patterns and processes. Caribbean Journal of Science. 45: 304-316.

Arreguín-Sánchez F. y E. Arcos-Huitrón. 2011. La pesca en México: estado de la explotación y uso de los ecosistemas. *Hidrobiológica*. 21(3): 431-462.

Barden K. P., M. L. Wittenrich y E. J. Cassiano. 2014. Candidate species for marine ornamental aquaculture: French Grunt *Haemulon flavolineatum*. Fisheries and Aquatic Sciences Department, University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu>. (Accesado septiembre 2015)

Bassam B. J. y G. Cactano-Anollés. 1993. Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 42: 181-188.

Beets J., L. Muehlstein, K. Haught y H. Schmitges. 2003. Habitat connectivity in coastal environments: patterns and movements of Caribbean coral reef fishes with emphasis on bluestriped grunt, *Haemulon sciurus*. *Gulf and Caribbean Research*. 14: 29-42.

Beheregaray L. B. y P. Sunnucks. 2001. Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. *Molecular Ecology*. 10:2849-2866.

Beltrán D. M., Schizas N.V., Appeldoorn R. S. y Prada C. 2017. Effective dispersal of Caribbean reef fish is smaller than current spacing among Marine Protected Areas. *Scientific Reports*. 7(1): 4689.

Brookfield J. F. Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*. 5: 453-455.

Cadrin S. X., K. D. Friedland y J. R. Waldman 2005. *Stock Identification Methods: Application in Fishery Science*. Elsevier Inc. Burlington, United States. 680 p.

Carrillo L., E. M. Johns, R. H. Smith, J. T. Lamkin y J. L. Largier. 2015a. Pathways and

hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System part 1: Circulation. *Continental Shelf Research*. 109: 164-176.

Carrillo L., E. M. Johns, R. H. Smith, J. T. Lamkin y J. L. Largier. 2015b. Pathways and hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System part 2: Water masses and thermohaline structure. *Continental Shelf Research*. 120: 41-58.

Chávez-Hidalgo A. 2009 Conectividad de los arrecifes coralinos del Golfo de México y Caribe mexicano. Tesis de Maestría. CICIMAR del IPN. La Paz, Baja California Sur.

Cowen R. K., K. M. Lwiza, S. Sponaugle, C. B. Paris y D. B. Olson. 2000. Connectivity of marine populations: Open or closed? *Science*. 287(5454): 857-859.

Cowen R. K., C. B. Paris y A. Srinivasan. 2005. Scaling of connectivity in marine populations. *Science*. 311: 522-527.

Cowen R. K. 2006. Larval dispersal and retention and consequences for population connectivity. en Sale P. F. *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complete ecosystem*. Elsevier. California, U. S. 549 p.

Curtis H., N. S. Barnes, A. Schnek y A. Massarini. 2011. *Biología*. Editorial Médica Panamericana. Séptima edición. Buenos Aires, Argentina. 1009 p.

Darcy G. H. 1983. Synopsis of biological data on the grunts *Haemulon aurolineatum* and *H. plumieri* (Pisces: Haemulidae). NOM Technical Report NMFS Circular 448. FAO Fisheries Synopsis No. 133. 37 p.

DOF. 2012. Actualización de la Carta Nacional Pesquera. *Diario Oficial de la Federación*, México. Agosto 24. 236p.

Ellien C., E. Thiebaut, A. S. Barnay, J. C. Dauvin, F. Gentil y J. C. Salomon. 2000. The influence of variability in larval dispersal on the dynamics of a marine metapopulation in the eastern Channel. *Oceanologica Acta*. 23(4): 423-442.

Fenderson L. E., A. I. Kovach, J. A. Litvaitis y M. K. Litvaitis. 2011. Population genetic structure and history of fragmented populations of the New England cottontail (*Sylvilagus transitionalis*). *Conservation Genetics*. 12(4): 943-958.

Francisco S. M., M. N. Vieira y V. C. Almada. 2006. Genetic structure and historical demography of the shanny *Lipophrys pholis* in the Portuguese coast based on mitochondrial DNA analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 288-292.

García-Merchán V. H. 2012. Estructura genética poblacional y discontinuidades oceanográficas en crustáceos decápodos. Tesis doctoral de la Universidad de Barcelona. Barcelona, España.

Goldson A. J., R. N. Hughes y C. J. Gliddon. 2000 Population genetic consequences of larval dispersal mode and hydrography: a case study with bryozoans. *Marine Biology*. 138: 1037-1042.

Johnes G. P., M. J. Milicich, M. J. Emslie y C. Lunow. 1999. Self-recruitment in a coral reef fish population. *Nature*. 402: 802-804.

Johnes G. P., M Srinivasan, y G. R. Almany. 2007. Population connectivity and conservation of marine biodiversity. *Oceanography*. 20: 100-111.

Jones M. E., y P. H. Barber. 2005. Characterization of microsatellite loci for the detection of temporal genetic shifts within a single cohort of the brown demoiselle, *Neopomacentrus filamentosus*. *Molecular Ecology Notes*. 5: 834-836.

Instituto Nacional de Ecología. 2000. Programa de manejo Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, México. 1ra edición. Instituto Nacional de Ecología. 224 p.

Lowe W. H. y F. W. Allendorf. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*. 19: 3038-3051.

Mateo I., E. Durbin, R. Appeldoorn, A. Adams, F. Juanes y D. Durant. 2011. Inferred growth of juvenile French grunts, *Haemulon flavolineatum* and schoolmaster *Lutjanus apodus*, in mangrove and seagrass habitats. *Bull. of Mar. Sci.* 87: 339-350. <http://dx.doi.org/10.5343/bms.2010.1064>

McFarland W. N., E. B. Brothers, J. C. Ogden, M. J. Shulman, E. L. Bermingham y N. M. Kotchian-Prentiss. 1985. Recruitment patterns in young French grunts, *Haemulon flavolineatum* (Family Haemulidae), at St. Croix, Virgin Islands. *Fish. Bull.* 83: 413-426.

Mojekwu T. O. y C. I. Anumudu. 2013. Microsatellite markers in aquaculture: Application in fish population genetics. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. 5(4): 43-48.

Monreal-Gómez M. A., D. A. Salas-de-León y H. Velasco-Mendoza 2004. La hidrodinámica del Golfo de México. en: Caso M., I. Pisanty y E. Ezcurra. Diagnóstico ambiental del Golfo de México. Instituto Nacional de Ecología. 1ra edición. 627 p.

Montes-Díaz Y., Y. Cardales-Barrios y E. Pardo-Pérez. 2015. Análisis de la variabilidad genética de las poblaciones de gatos domésticos (*Felis catus*) mediante genes del pelaje en Cartagena, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 39 (153): 520-526.

Moreno L. A. 2007. Tamaño efectivo de la población. en: Eguiarte L. E., V. Souza y X. Aguirre. *Ecología molecular*. SEMARNAT. Primera edición. 592 p.

Muhling B., R. Smith, L. Vásquez-Yeomans, J. Lamkin, E. Johns, L. Carrillo, E. Sosa-Cordero y E. Malca. 2013. Larval fish assemblages and mesoscale oceanographic Structure along the Mesoamerican Barrier Reef System. *Fisheries Oceanography*. 22: 409-428.

Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.

O'Connell M., M. C. Dillon, J. M. Wright, P. Bentzen, S Merkouris y J. Seeb. 1998. Genetic structuring among Alaskan Pacific herring population identified using microsatellite variation. *Journal of Fish Biology*. 53: 150-163.

Ospina-Guerrero S. P., R. M. Landinez-García, D. J. Rodríguez-Castro, R. Arango y E. Márquez. 2008. Genetic connectivity of *Stegastes partitus* in the South Caribbean evidenced by microsatellite analysis. *Ciencias Marinas*. 34(2): 155-163.

Purcell J. F., R. K. Cowen, C. R. Hughes y D. A. Williams. 2006. Weak genetic structure indicates strong dispersal limits: a tale of two coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B*. 243: 1483-1490.

Quezada-Euán J. J., R. J. Paxton, K. A. Palmer, W. de J. May-Itzá, W. T. Tay y B. P. Oldroyd. 2007. Morphological and molecular characters reveal differentiation in a Neotropical social bee, *Melipona beecheii* (Apidae: Meliponini). *Apidologie* 38: 1-12.

Rice W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*. 43(1): 223-225.

Rodríguez-Valencia J. A. 2007. La conectividad demográfica y el diseño de redes de áreas de conservación en el Golfo de California. 20 p. Disponible en <http://www.wwf.org.mx/wwfmex/publicaciones.php?tipo=reps>

Sanches A. y P. M. Galetti. 2012. Population genetic structure revealed by a school of the

freshwater migratory fish, *Brycon hilarii*. Lat. Am. J. Aquat. Res. 40(2): 408-417.

Shete S., H. Tiwari, y R. C. Elston. 2000. On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value. Theoretical Population Biology. 57(3): 265-271.

Shulman M. J. y J. C. Ogden. 1987. What controls tropical reef fish populations: recruitment or benthic mortality? An example in the Caribbean reef fish *Haemulon flavolineatum*. Marine Ecology-Progress Series. 39: 233-242.

Swearer S. E., J. E. Caselle, D. W. Lea y R. R. Warner. 1999. Larval retention and recruitment in an Island population of a coral-reef fish. Nature. 402: 799-802.

Tay Y. C., A. M. E. Noreen, Suharsono, L. M. Chou y P. A. Todd. 2015. Genetic connectivity of the broadcast spawning reef coral *Platygyra sinensis* on impacted reefs, and the description of new microsatellite markers. Cor. Reefs. 34:301-311. DOI 10.1007/s00338-014-1206-6

Tello-Cetina J., L. Gómez-Victoria, R. Zamora-Bustillos, G. Rivera-Muñoz, S. Solís-Pereira y H. Loria-Sunza. 2013. Estructura genética del copépodo *Acartia lilljeborgii* en la costa del estado de Yucatán, México. Latin American Journal of Aquatic Research. 41(5): 925-932.

Villegas-Hernández H. O. 2010 Determinación de la estructura poblacional e identificación del stock del chac-chí (*Haemulon plumieri*) del litoral norte de la Península de Yucatán a través de marcadores moleculares y la forma de los otolitos. Tesis de Maestría. CINVESTAV del IPN. Mérida, Yucatán.

Weir B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution. 38:1358-1370.

Williams D. A., J. Purcell, R. K. Cowen y C. R. Hughes. 2004. Microsatellite multiplexes for high-throughput genotyping of French grunts (*Haemulon flavolineatum*, Pisces: Haemulidae) and their utility in other grunt species. Molecular Ecology Notes. 4: 46-48.

Wright S. 1969. The theory of gene frequencies. Evolution and the Genetics of Populations. Vol 2. University of Chicago. Press Chicago. United States.

Wright S. 1978. Variability within and among natural populations. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. University of Chicago. Press. Chicago. United States.200 p.

Zatcoff M. S., A. O. Ball y G. R. Sedberry. 2004. Population genetic analysis of red grouper, *Epinephelus morio*, and scamp, *Mycteroperca phenax*, from the southeastern U. S. Atlantic and Gulf of Mexico. Marine Biology. 144: 769-777.